

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium UPT Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura tepatnya di Tanggul – Jember dan di Lahan Pertanian yang berada di Jember. Penelitian ini dilaksanakan pada November 2017 hingga April 2018.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah polybag, timbangan, drum, cetok, kompor, label, karung, tali, gelas ukur, jarum ose, petridish, pinset, gunting, bunsen, *Laminar Air Flow* (LAF), mikroskop, oven, panci, pisau, alat tulis, kamera dan alat tulis.

3.2.2 Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah bibit tanaman cabai rawit (*C. frutescens*), Jamur *F. oxysporum*, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media tanam berupa tanah dan pasir dengan perbandingan 1:1, daun cengkeh, daun sirih, abu sekam, air dan pupuk.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara sederhana. Terdapat 10 perlakuan yang diulang sebanyak 4 kali dengan sampel masing-masing 3. Perlakuan tersebut diantaranya: kontrol positif (tanpa patogen dan pengendalian) (P1), kontrol negatif (patogen tanpa

pengendalian) (P2), fusarium + serbuk cengkeh 25 gram (P3), fusarium + serbuk cengkeh 50 gram (P4), fusarium + serbuk sirih 25 gram (P5), fusarium + serbuk sirih 50 gram (P6), fusarium + abu sekam 2,5 gram (P7), fusarium + abu sekam 5 gram (P8), fusarium + kombinasi serbuk cengkeh, sirih dan abu sekam 25 gram (P9) dan fusarium + kombinasi serbuk cengkeh, sirih dan abu sekam 50 gram (P10).

3.4 Tahapan Penelitian

3.4.1 Isolasi Jamur *F. oxysporum*

Isolasi patogen jamur *F. oxysporum* dilakukan dengan cara memotong bagian tanaman yang bergejala seperti layu dengan diiringi warna kecoklatan dan bagian tanaman yang sehat dimana masih terdapat warna hijau serta segar sepanjang 0,5 cm. Potongan bagian tanaman tersebut disterilisasi dengan natrium hipoklorit 1,5% kemudian dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali. Potongan tersebut ditumbuhkan ke cawan Petri yang berisi PDA dan diinkubasi selama 7 hari (Maulana. dkk. 2016).

3.4.2 Pembibitan Cabai Rawit

Persiapan bibit cabai rawit dengan cara menyemai benih varietas genie menggunakan plastik kecil (babybag). Benih cabai rawit terlebih dahulu dicuci dan diperam dengan menggunakan air hangat untuk mempercepat masa imbibisi benih. Benih tersebut diperam selama 24 jam. Langkah selanjutnya yakni mempersiapkan media tanam dengan perbandingan komposisi media tanam tanah dengan kompos yakni 1:1. Kemudian dimasukkan ke dalam plastik kecil hingga penuh. Setelah itu, benih cabai rawit tersebut diletakkan pada masing-masing lubang plastik kecil (1 lubang untuk 1 benih) dan ditaburi menggunakan media tanam. Kedalaman benih cabai rawit berkisar

0,5 cm dibawah permukaan tanah. Setelah itu dilakukan penyiraman secara berkala 2 kali sehari hingga bibit cabai rawit siap untuk ditanam.

3.4.3 Uji Postulat Koch

Uji Postulat Koch digunakan untuk mengetahui virulensi jamur yang akan digunakan penelitian terhadap tanaman budidaya yang akan diuji. Tahapan melakukan uji postulat koch yakni dengan menginokulasikan jamur *F. oxysporum* ke dalam media tanam ataupun pada bagian tanaman cabai rawit yang sudah berumur 3 minggu, kemudian mengamati gejala yang muncul. Gejala penyakit tanaman yang muncul harus sama dengan gejala tanaman yang terinfeksi oleh jamur *F. oxysporum* dimana patogen tersebut diisolasi. Setelah itu, dilakukan isolasi kembali terhadap tanaman cabai rawit yang bergejala tersebut. Tanaman yang diisolasi harus memiliki karakteristik yang sama dengan yang dimiliki oleh patogen sebelumnya.

3.4.4 Perbanyakan Jamur *F. oxysporum*

Perbanyakan jamur *F. oxysporum* adalah menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan, lalu memanen jamur *F. oxysporum* beserta medianya menggunakan bor gabus atau jarum ose. Setelah itu, menumbuhkan pada media PDA dan ditutup rapat menggunakan plastik wrap serta diinkubasi selama 7 hari sebelum dipanen dan diaplikasikan.

3.4.5 Persiapan Media Tanam

Persiapan media tanam ini pertama yaitu menyiapkan tanah dan pasir. Masing-masing media tanam disterilkan dengan cara dipanaskan menggunakan drum yang dibakar. Tanah dan pasir tersebut dipanaskan selama 4 jam hingga suhunya mencapai

70°C (Cahyani, 2009). Setelah disterilkan, tanah dan pasir tersebut dihomogenkan dengan perbandingan 1:1. Setelah homogen, media tanam ditimbang dengan takaran masing - masing polybag berisi 8kg (2/3 bagian polybag).

3.4.6 Perhitungan Kerapatan Spora

Jamur *F. oxysporum* yang telah diinkubasi selama 7 – 10 hari atau penuh sesuai dengan ukuran petridish, maka sebelum aplikasi ke media tanam perlu adanya perhitungan kerapatan spora. Spora patogen dipanen menggunakan aquadest steril sebanyak 10ml yang kemudian disebut dengan larutan stok. Larutan stok yang telah didapat, divortex selama 3 menit untuk mendapatkan kehomogenan yang tepat. Mengambil 1ml pada larutan stok untuk diencerkan dengan tambahan aquadest steril sebanyak 9 ml selanjutnya disebut dengan pengenceran pertama. Hal ini dilakukan hingga pengenceran ke 6. Setelah itu, mengambil 0,2 ml pada suspensi pengenceran ke 6 untuk diamati menggunakan haemocytometer.

3.4.7 Aplikasi Jamur *F. oxysporum*

Jamur *F. oxysporum* ini diaplikasikan pada kerapatan 10^6 spora/ml dengan takaran masing-masing polybag sebanyak 20 ml. Aplikasi jamur *F. oxysporum* dilakukan 7 hari sebelum tanam (Sutarini, dkk., 2015).

3.4.8 Pemilihan Bibit

Bibit yang baik dilakukan seleksi sebelum dipindah tanam ke polybag. Menurut Nani dan Arie (2014), pemilihan bibit dapat dilakukan dengan cara menyeleksi bibit yang sama secara fisik dalam ukuran dan jumlah daunnya. Pemilihan bibit yang siap

tanam adalah bibit yang sudah berumur kurang lebih 3 minggu atau memiliki jumlah daun 3 - 4 helai. Penanaman ini menggunakan media tanam tanah dan pasir.

3.4.9 Aplikasi Abu Sekam

Aplikasi abu sekam dilakukan setelah media tanam ditimbang dan dimasukkan ke dalam polybag. Aplikasi abu sekam tepatnya dilakukan bersamaan dengan penanaman bibit cabai rawit. Abu sekam ini diberikan pada daerah rhizosfer dari cabai rawit. Pemberian abu sekam ini ditimbang terlebih dahulu sesuai dengan dosis perlakuan sebelum diaplikasikan. Dosis yang ditimbang yakni seberat 2,5 gram dan 5 gram. Setelah abu sekam diberikan pada media tanam, proses penanaman dapat dilakukan (Sumarni, dkk., 2014).

3.4.10 Pindah Tanam

Bibit yang pindah tanam harus melewati masa seleksi atau pemilihan bibit. Bibit cabai rawit dapat dipindah tanam atau transplanting pada pagi atau sore hari guna mengurangi tingkat stress tanaman tersebut. Kegiatan pindah tanam atau yang biasa disebut dengan transplanting ini dilakukan bersamaan dengan aplikasi jamur *F. oxysporum*.

3.4.11 Pembuatan Fungisida Nabati

Pembuatan serbuk fungisida nabati dari daun cengkeh yakni dengan memotong kecil daun yang sudah dikeringanginkan selama 7 hari hingga kecil-kecil. Potongan kecil-kecil tersebut dilakukan untuk memudahkan ketika penumbukan potongan daun yang dapat dilakukan dengan menggunakan mortar ataupun blender. Kemudian, bubuk daun cengkeh tersebut ditimbang sesuai dengan dosis perlakuan 25 gram dan 50 gram.

Setelah halus, bubuk daun cengkeh kering tersebut dapat diaplikasikan ke media tanam yang telah disediakan. Pembuatan serbuk daun sirih juga memiliki kadar dosis yang sama dengan pembuatan pada serbuk daun cengkeh.

3.4.12 Aplikasi Fungisida Nabati

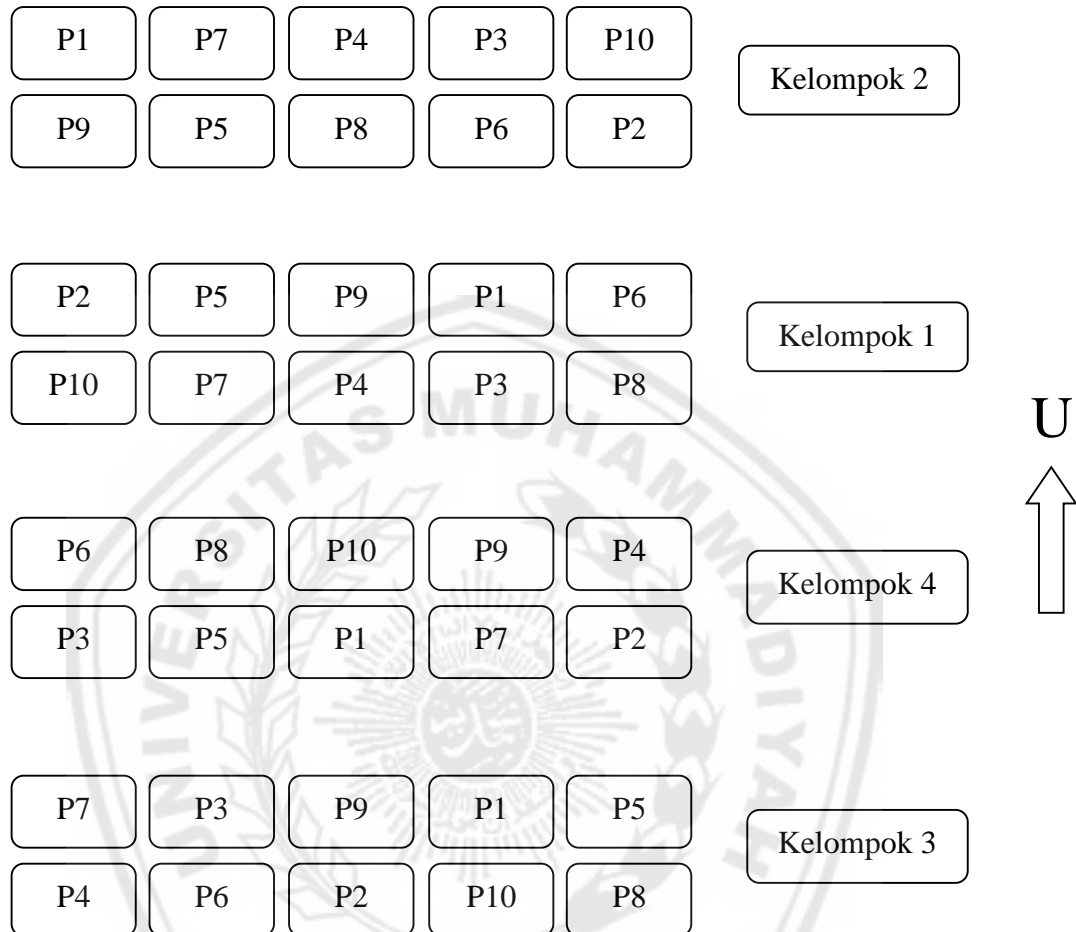
Aplikasi fungisida nabati dilakukan saat 7 hari setelah inokulasi jamur *F. oxysporum* atau 7 hari setelah pindah tanam. Aplikasi fungisida nabati cukup dilakukan sekali selama budidaya tanaman tersebut berlangsung. Fungisida nabati yang digunakan berupa serbuk yang dibenamkan dalam media tanam sedalam 3 cm (area perakaran) sesuai dengan dosis perlakuan yang digunakan. Termasuk perlakuan kombinasi antara serbuk daun cengkeh, sirih dan abu sekam dicampur dengan perbandingan 1:1:1 lalu ditimbang dengan berat 25 gram dan 50 gram untuk diaplikasikan.

3.4.13 Pemeliharaan Tanaman Cabai Rawit

Perawatan tanaman meliputi penyiraman, penyiangan, dan pemupukan. Penyiraman dilakukan setiap pagi dan sore hari dengan air sebanyak 100 ml untuk sekali penyiraman. Penyiangan dilakukan secara manual untuk menghilangkan gulma. Pemberian pupuk dilakukan 3 kali selama penelitian. Pupuk pertama yang diaplikasikan pada 7 hari setelah tanam adalah pemberian pupuk dasar dengan dosis 10 g urea, 10 g SP36, dan 5 g KCL setiap tanaman. Pupuk selanjutnya yaitu satu minggu sekali pada umur 20 hingga 90 hari setelah tanam dengan pemberian KCL 5gr setiap tanaman.

3.5 Denah Percobaan

Denah percobaan penelitian ini disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Denah percobaan penelitian

Keterangan: kontrol positif (tanpa patogen) (P1), kontrol negatif (patogen tanpa pengendalian) (P2), fusarium + serbuk cengkeh 25 gram (P3), fusarium + serbuk cengkeh 50 gram (P4), fusarium + serbuk sirih 25 gram (P5), fusarium + serbuk sirih 50 gram (P6), fusarium + abu sekam 2,5 gram (P7), fusarium + abu sekam 5 gram (P8), fusarium + kombinasi serbuk cengkeh, sirih dan abu sekam 25 gram (P9) dan fusarium + kombinasi serbuk cengkeh, sirih dan abu sekam 50 gram (P10).

3.6 Pengamatan

Pengamatan pada penelitian dilakukan dalam jumlah dan waktu yang berbeda.

Variabel pengamatan penelitian ini terdiri dari:

1. Gejala Serangan Layu

Pengamatan gejala serangan layu dilakukan setiap hari. Ketika ada tanaman yang diduga memiliki gejala yang sama dengan tanaman yang terserang oleh *F. oxysporum*, maka dilakukan identifikasi. Pengamatan ini dilakukan secara makroskopis lapang dan laboratorium. Pengamatan makroskopis lapang meliputi warna daun dan layu atau tidaknya tanaman saat pertama diperoleh gejala yang mirip dengan gejala serangan *F. oxysporum*. Setelah dilakukan pengamatan makroskopis lapang, maka dilakukan pengamatan makroskopis laboratorium dengan cara mengisolasi bagian tanaman yang terserang untuk ditumbuhkan ke media PDA dan diinkubasi selama 7 hari. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan terhadap jamur yang tumbuh pada tanaman yang diduga terserang berupa bentuk sporanya.

2. Masa Inkubasi

Masa inkubasi dihitung sejak inokulasi patogen hingga munculnya gejala pertama pada tanaman. Gejala yang ditunjukkan oleh bibit cabai yang terserang oleh *F. oxysporum* yaitu layu pada bagian daun cabai rawit hingga kematian atau layu keseluruhan bagian tanaman. Pengamatan masa inkubasi dilakukan setiap hari dengan cara mengamati bagian tanaman dan hari seberapa tanaman tersebut memiliki gejala serangan patogen.

3. Intensitas Serangan

Pengamatan intensitas serangan menurut Saragih, dkk. (2006), dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$P = \frac{a}{a + b} \times 100\%$$

Keterangan:

p: presentase serangan penyakit

a: jumlah tanaman yang terserang

b: jumlah tanaman yang sehat

pengamatan ini dilakukan dimulai dari hari sejak pindah tanam hingga penelitian selesai 100 HST.

4. Tinggi Tanaman

Pengamatan tinggi tanaman dilakukan selama 4 hari sekali selama penelitian (100 hari). Sehingga pengamatan ini dilakukan sebanyak 25 kali. Pengamatan tinggi tanaman akan dihitung dengan ketentuan batas atas dan batas bawah, batas atas tanaman yaitu pucuk tanaman hingga daun terpanjang saat ditelungkupkan, sedangkan batas bawah tanaman yaitu batas antara batang dengan leher akar. Pengamatan ini menggunakan satuan cm. Pengamatan dilakukan siang hingga sore hari.

5. Jumlah Daun

Pengamatan jumlah daun dilakukan selama 4 hari sekali bersamaan dengan pengamatan tinggi tanaman. Sehingga data pengamatan dari jumlah daun ada 25 data

pengamatan. Daun yang dihitung jumlahnya adalah daun yang telah membuka dengan sempurna. Satuan perhitungan jumlah daun menggunakan helai daun.

6. Jumlah Buah

Jumlah buah dihitung secara keseluruhan baik yang berwarna hijau ataupun merah. Perhitungan buah cabai rawit tidak memiliki kriteria khusus yang harus diperhatikan. Syarat masuknya dalam perhitungan jumlah buah yakni sudah adanya buah cabai rawit yang terlepas dari mahkota bunganya sehingga tampak buah cabai rawit yang dimaksudkan.

7. Berat Basah Buah

Perhitungan berat basah buah dilakukan dengan cara memanen semua buah cabai yang telah merah dan matang secara fisiologis dan dikumpulkan menjadi satu pertanaman kemudian ditimbang. Perhitungan berat basah buah menggunakan satuan gram.

3.7 Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA). Jika analisis menunjukkan hasil yang berbeda nyata diantara perlakuannya, maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT=*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf 5%.